

(51) Int.Cl.⁶
G 0 1 N 27/327
27/28

識別記号
0275-2J
3 3 1

序内整理番号
0275-2J
0275-2J

F I
G 0 1 N 27/30
27/28
27/30

3 5 3 B
3 3 1 Z
3 5 3 Z

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 17 頁)

(21)出願番号 特願平7-526564
(86) (22)出願日 平成7年(1995)4月12日
(85)翻訳文提出日 平成8年(1996)10月9日
(86)国際出願番号 PCT/AU95/00207
(87)国際公開番号 WO95/28634
(87)国際公開日 平成7年(1995)10月26日
(31)優先権主張番号 PM5068
(32)優先日 1994年4月14日
(33)優先権主張国 オーストラリア (AU)

(71)出願人 メムテック・アメリカ・コーポレイション
アメリカ合衆国21093メリーランド州 テ
ィモニウム、ディーレコ・ロード9690番
スウィート700
(72)発明者 ドラモンド、ハンフリー・ジョン・ジャー
ディン
オーストラリア2756ニュー・サウス・ウェ
ールズ、ウィンザー、ドラモンド・ストリ
ート33番
(74)代理人 弁理士 青山 葦 (外1名)

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 電気化学的電池

(57)【要約】

膜の一方の面からもう一方の面に通じる孔(図示せず)を有する電気絶縁組成物の多孔質膜(8)、一方の面側に配置した作用電極(5)、および他方の面側に配置した対または擬参照電極(7)から成る電気化学的電池。1個の電極の標的域(11)は液体透過性で、膜(8)表面上に、下に存在する膜の孔を塞ぐことなく広がっている。要すれば絶縁層(9、10)で電極(5、7)を被覆し、穴により標的域(11)を限定する。好ましくは、多孔質膜に、試薬(例えばGOD/フェリシアニド)を含浸させる。

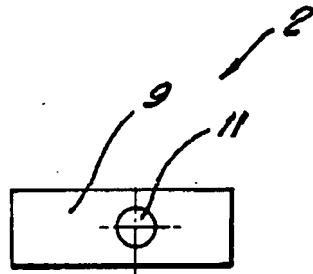


FIG. 2

【特許請求の範囲】

1. 膜の一方の面からもう一方の面に通じる孔を有する電気絶縁組成物の多孔質膜。
 - 一方の面側に配置した作用電極、
 - 他方の面側に配置した対または擬参照電極から成る電気化学的電池であって、1個の電極の標的域は液体透過性で、多孔質膜の表面上に、下に存在する膜の孔を塞ぐことなく広がっている電気化学的電池。
2. 膜の孔開口は、膜の一方の面において他方の面よりも大きい断面積を有する請求項1記載の電気化学的電池。
3. 作用電極は、金、白金、パラジウム、イリジウム、鉛およびそれらの合金から成る群から選択する金属から成る請求項1または2記載の電気化学的電池。
4. 対または擬参照電極は、金、白金、パラジウム、銀および塩化銀から選択する請求項1～3のいずれかに記載の電気化学的電池。
5. 参照電極は銀または塩化銀から成る請求項1～4のいずれかに記載の電気化学的電池。
6. 作用電極は、孔開口断面積の小さい方の膜面側に存在する請求項2記載の電気化学的電池。
7. 膜は1種またはそれ以上の試薬を含浸する請求項1～6のいずれかに記載の電気化学的電池。
8. 膜は酵素およびメディエーターを含浸する請求項7記載の電気化学的電池。
9. 膜はGODおよびメディエーターを含浸する請求項7記載の電気化学的電池。
10. 膜はGOD／フェリシアニドを含浸する請求項1～9のいずれかに記載の電気化学的電池。
11. サンプル中の分析物を検出する方法であって、請求項1～10のいずれかに記載の電気化学的電池の標的域にサンプルを接触させることを含んで成る方法。

1 2. 電気化学的電池を製造する方法であって、一方の面から他方の面に通じ

る孔を有する膜の一方の面側に作用電極を配置し、その反対の膜面側に対または
擬参照電極を配置する工程を含んで成り、少なくとも1個の電極は液体透過性で
ある方法。

1 3. 少なくとも1個の電極を膜の表面上に形成する請求項1 2記載の方法。

1 4. 少なくとも1個の電極を、スパッタリング、無電解めっき、電解めっき
、蒸着および陽極酸化から成る群から選択する付着方法によって形成する請求項
1 2記載の方法。

1 5. 膜の孔は、膜の一方の面において他方の面よりも大きい断面積を有する
請求項1 2～1 4のいずれかに記載の方法。

1 6. 作用電極を、孔断面積の小さい方の膜面側に配置する請求項1 5記載の
方法。

1 7. 作用電極を、1個またはそれ以上の「標的」域以外の部分において、非透
過性層で被覆する工程を更に含んで成る請求項1 2～1 6のいずれかに記載の方
法。

1 8. 作用電極とは反対の膜面側に参照電極を形成する工程を更に含んで成る
請求項1 2～1 7のいずれかに記載の方法。

1 9. 作用電極と同じ側に参照電極を形成する工程を更に含んで成る請求項1
2～1 7のいずれかに記載の方法。

2 0. 参照電極は銀および／または塩化銀から成る請求項7記載の方法。

2 1. 多孔質膜に1種またはそれ以上のメディエーターを含浸させる工程を更
に含んで成る請求項1 2～2 0のいずれかに記載の方法。

2 2. メディエーターは酸化状態にある請求項2 1記載の方法。

2 3. 多孔質膜にGOD／フェリシアニドを含浸させる請求項1 2～2 0のい
ずれかに記載の方法。

2 4. 電極表面の少なくとも一部に、電気絶縁組成物を適用する工程を更に含
んで成る請求項1 2～2 3のいずれかに記載の方法。

2 5. 膜は、ポリスルホン、ポリアミド、ポリハロゲン化ビニリデン、ポリア

クリロニトリルおよびポリカーボネートから成る群から選択するポリマーから成

る請求項 12～24 のいずれかに記載の方法。

26. 膜は親水性および不活性であり、赤血球を溶血しない請求項 16 記載の方法。

27. 血中グルコースの検出に使用する請求項 10 記載の電気化学的電池。

【発明の詳細な説明】

電気化学的電池

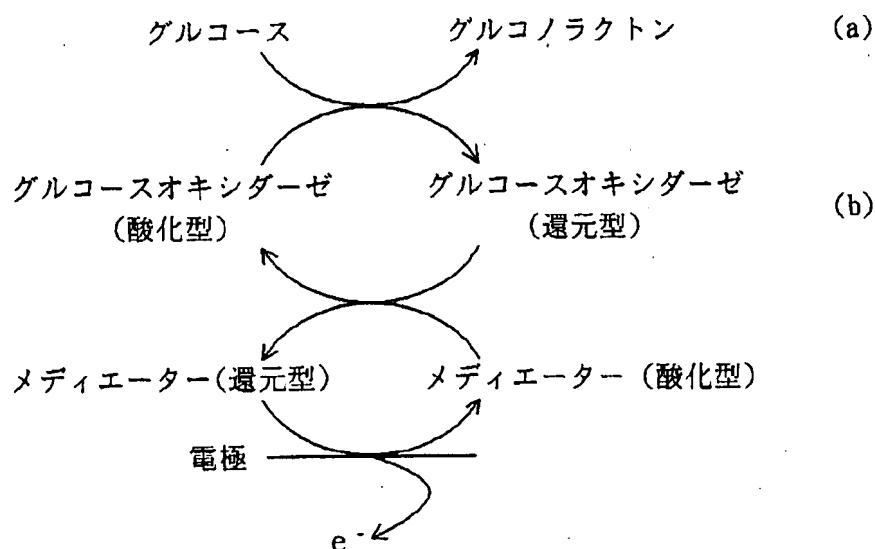
発明の分野

本発明は、改良された電気化学的電池、並びにそのようなデバイスを用いる分析物の検出および測定方法に関する。

発明の背景

本発明をグルコースバイオセンサーに関して説明するが、そのような用途は例示に過ぎず、本発明は電気化学的電池を使用する他の種類のセンサーまたはシステム、例えば高温フィルター、ディスプレーアイテム、化学分析装置(例えば廃水中の重金属分析用)などにも適用し得ると理解すべきである。

電気化学的グルコースアナライザー(例えば糖尿病患者が血糖レベルをモニターするため、および診療所または病院で使用するもの)は、反応経路(a)に基づいている：



通例、アナライザー内のセンサーは、上記反応経路(b)に示すように、酵素と電極との間で電子を移動させるメディエーターから成る。そのような移動によって生じる信号を処理し、酵素基質の関数として表す。例えば、血液または血清中

のグルコースの測定のためには、グルコースオキシダーゼ(GOD)を使用する。
既知のグルコースセンサーはストリップで、その一端は予め限定した標的また

はサンプル域で、3個の電極がそれぞれストリップの長さ方向に標的域を渡って取り付けられている。中央の塩化銀電極は、擬参照電極であり、残り2個の電極は作用電極として知られる。各作用電極は、カーボンペーストのコアから成る。そのうち1個はGODおよびメディエーターの層で被覆され、他の1個は、メディエーター(例えばフェロセン)の層で被覆されている。

約25μlまでの血液またはサンプル滴を標的域に適用した後、各作用電極における電流を測定する検出器にストリップを挿入する。この電流が、フェロセンの酸化と、(GOD含有作用電極においては)前記反応経路によってメディエーターの還元により生成したフェロセンの再酸化とに対応する。それらの電流の差を用いて、元の血中グルコース濃度を求める。

欧州特許第289269号には、ベースセンサーストリップと、その上の排除層または膜(赤血球を排除するか、またはセンサーストリップへのサンプル流入を調節する)とを有するバイオセンサーが記載されている。

国際特許出願公開93/13408号にも、電極を有するハウジングに複合膜を溶接した同様の装置が開示されている。複合膜は、触媒剤を固定した多孔質膜と、少なくとも1個の保護または遮断膜とから成る。触媒作用を受けた生成物は、複合膜から、ハウジング内の限定された穴に流入して、電極と相互作用する。

欧州特許第230472号には、その上に3個の電極をスクリーンプリントした絶縁基材上に配置したナイロン不織布のような多孔体が開示されている。サンプルを多孔体上に適用すると、サンプルはそれを通過して基材に至り、そこで酵素触媒反応が起こる。

米国特許第4431507号には、2個の作用電極を多孔質膜の両方の面側に分けて有する電極装置が開示されている。一方の電極が、試験溶液中に含まれる妨害物質が他方の作用電極によって酸化されるのを防ぐ。

前記電極装置は、対および参照電極を吊した緩衝溶液の入った電池内で使用する。

発明の開示

本発明は、少量のサンプルを用いて、グルコースのような分析物のレベルを、

正確、簡便かつ短時間で測定することのできる改良された新規電気化学的電池に関する。これは、現在用いられているセンサーに代わるものとして有用である。

本発明の一態様は、

膜の一方の面から他方の面に通じる孔を有する電気絶縁組成物の多孔質膜、

一方の面側に配置した作用電極、

他方の面側に配置した対または擬参照電極

から成り、少なくとも1個の電極の標的域は液体透過性で、多孔質膜の表面上に、下に存在する膜の孔を塞ぐことなく広がっている電気化学的電池である。

作用電極は、そこで測定する電気化学的反応が起こる電極である。作用電極の電位を正確に測定する必要がある場合は、別に対および参照電極を使用し得る。

対電極は回路を完成し、参照電極は作用電極の電位を明確にする。多くの適用において、作用電極電位の測定は、それほど精密でなくてよい。そのような場合は、参照電極と対電極の機能を組み合わせて、「擬参照」電極、または組み合わせた「対／参照」電極と称する一つの電極とすることができます。本発明においては、対電極または擬参照電極を、作用電極とは反対の膜面側に配置する。対電極とは別に参照電極を使用する場合は、参照電極を、対電極もしくは作用電極と同じ膜面側、または膜外に配置し得る。

多孔質膜は好ましくは、滑らかで光沢のある面から粗い面に向って直径の増す孔を有する。とりわけ、多孔質膜は、米国特許第4629563号および第4774039号に開示された種類のものであることが好ましい。それらの特許全体を引用により本発明の一部とする。

少なくとも1個の電極は、その下の膜の孔を塞がないように形成しなければならない。これは、分析物の溶液または懸濁液が透過し得るようにするためである。電極がその全面にわたって孔を有することは不可欠ではないが、少なくとも標的域においては液体透過性でなければならない。

好ましくは、スパッタリング、無電解めっき、電解めっき、蒸着、陽極酸化などによって、膜表面上に連続フィルムを形成するように、少なくとも1個の電極を形成する。そのフィルムは、標的域において電極が透過性となるように、孔開

口を覆わず、孔開口をあらわにする。例えばグルコース測定用電池の場合、電極多孔性は、血清の通過に充分である。電極多孔性は、選択した多孔質膜の孔開口サイズによって、ある程度決まる。電極フィルム厚さは好ましくは10～200nm、とりわけ60～120nmである。好ましくは、2個の電極はいずれも、スパッタリング、または部分減圧下に蒸着したもので、液体透過性である。

標的域は好ましくは、1個の電極上の絶縁層の穴によって限定する。

特に好ましい態様においては、本発明の電気化学的電池はグルコースレベル測定に使用し、従って、GOD／フェリシアニド処理膜を有し、該膜は、その非対称な孔によって全血から血清を分別する。

本発明はもう一つの態様において、電気化学的電池の製法を提供する。この方法は、多孔質膜の二つの面側のそれぞれに電極を配置し(少なくとも1個の電極は水透過性である)、要すれば多孔質膜中に触媒／メディエーター試薬を保持させ、および1個の電極上に標的域を限定する工程を含んで成る。

図面の簡単な説明

本発明の一態様を、添付の図面を参照して、単なる例として説明する：

第1図は、側断面図として、グルコースセンサー1の製造工程を順に追って図示するものである。

第2図および第3図は、それぞれ、バイオセンサー1の上面および底面を示すものである。

本発明の好ましい態様の説明

光沢のある、または滑らかな面3には小さい孔を有し、粗い表面4には、より大きい孔を有する清潔な膜2に、金のスパッタリングによって作用電極5を形成する。更に、粗い表面の6の部分に銀をスパッタリングし、次いで塩素化して、参照または対電極7を形成する。その後、電極被覆した膜に、触媒／メディエーター試薬8(例えばGOD／Fe(CN)₆³⁻)を含浸させた後、電気絶縁組成物の層9、10を適用する。9に穴を開けることによって、膜上に透過性標的域11を

限定する。

使用する非対称多孔質膜2は、好ましくは、米国特許第4629563号およ

び第4774039号に開示された方法によって製造したものであり、ポリスルホン、ポリアミド、ポリハロゲン化ビニリデン、ポリアクリロニトリル、ポリカーボネートなどから選択する少なくとも一種のポリマーから成り得る。厚さは約180μ、好ましくは30～150μであり得、孔直径は少なくとも10キロダルトンのカットオフ(下限)ないし5μm、好ましくは0.2～0.5μmであり得る。親水性、不活性であり、赤血球を溶血せず、血清と赤血球との分離を促進する膜が、特に好ましい。

2個の金作用電極または作用電極5を第1図に示すが、好ましくは、滑らかな面側に作用電極1個が存在し、反対側の電極は、参照もしくは対または組み合わせた対/参照電極である。金以外に、白金、パラジウム、イリジウム、鉛、貴金属または合金のような金属を、作用電極の形成に使用し得る。作用電極は、滑らかな面上に連続フィルムを形成するように、スパッタリング、部分減圧下の蒸着、無電解めっき、電解めっきなどによって適用し得る。2個の作用電極が存在する場合、それらは異なる金属または合金であり得る。

対もしくは参照または組み合わせた対/参照電極を、場合によりスパッタリング、部分減圧下の蒸着、無電解めっき、電極めっきなどによって、膜の粗い面上に付着させ得る。対または組み合わせた対/参照電極は、例えば、金、白金、パラジウム、銀または他の適当な金属であり得る。水酸化ニッケルまたはハロゲン化銀を、参照電極の形成に使用してもよい。塩化銀を使用し得るが、充分な塩化物イオンが血液サンプル中に存在し得る場合に銀を使用するならば、塩素化は不要であり得る。

作用および参照電極を、膜の各面においてマスクを用いて限定、または形を定め得る。粗い表面上の別の対および擬参照電極も、マスクを用いて限定し得る。これにより、ハロゲン化銀または他の参照電極の必要性を排除し得る。

絶縁層の限定のためにもマスクを使用し得る。絶縁層は、例えばプラズマ重合によって調製し得る。あるいは、非透過性層を、絶縁として膜に積層し得る。し

かし、センサーまたは膜と相互作用するサンプルの通過する標的域には、絶縁を施すべきでない。これは、層の適用後に穴を開けるか、または一部を切り取ること

とによって達成し得る。本発明の新規センサーは、必要なサンプル量は従来技術の約 $2.5\mu l$ と比較して少量(例えば $1\mu l$)であるという利点を有するので、小さい(例えば1mm角の)標的域が好ましい。

滑らかな作用電極側に支持層を積層することも有利であり得る。支持層は、蒸発の結果としての冷却を防止する作用電極キャビティを形成し得、また、場合により、作用電極キャビティから支持層中の溝を経て空気を逃がし得るからである。

好ましい剤(例えばGOD/フェリシアニド)による膜の含浸は、未処理膜、電極適用後の膜、または絶縁層適用後の膜に対して行ない得る。メディエーターは、酸化または還元状態(例えば、フェリシアニドまたはフェロシアニド)で含浸させ得る。酸化型メディエーターは、初期電流を最少にし得る。

電気化学的妨害物質が、試験を通じて実質的に一定の濃度で存在し得る。一方、試験の進行につれて還元型メディエーター濃度が高まり得る。従って、試験開始時の電圧パルスによって電気化学的妨害物質を主に測定し得、試験終了時の電圧パルスによって、電気化学的妨害物質と、グルコースの反応により生成した還元型メディエーターとの和を測定し得る。後の信号から先の信号を差し引くことによって、電気化学的妨害物質の影響を除去または低減し得る。例えば、0.1～1.0秒間(例えば2秒間)の初期パルスで、電気化学的妨害物質の影響を測定する。その後、電極の接続を切って1～100秒間(例えば8秒間)経た後、更なるパルスで再び電気化学的妨害物質の影響を測定する。しかし、今度は、電極付近の還元型メディエーター蓄積によるグルコース由来電流が増している。

本発明の他の利点は、非対称多孔質膜の使用によってもたらされる。非対称多孔質膜は、血清と赤血球とを分別し、試薬と相互作用する血清または基質を、より純粋なものとする。サンプルを膜内に保持および「保護」し得るので、サンプルの蒸発および/または妨害も少なく、それによっても測定感度が改善される。分別およびセンサー機能を有する二重作用膜により、グルコース測定を短時間(例えば約20秒以内)に完了することができる。

本発明の新規センサーの感度は、膜に含浸させた酸化型または還元型メディエ

ーターまたはフェリシアニドによって異なる電位となった2個の作用電極の使用によって、更に改善し得る。これにより、最後のわずか数秒間で、または連続的に、電極をスイッチできるからである。一方の値から他方の値を差し引くことによって、電気化学的妨害物質の影響を更に低減し得る。

同様に、異なる金属／合金の2個の作用電極の使用によって、電気化学的妨害物質の影響を更に低減し得る。

装置の使用時に、電極に加える電圧を特定し、生じる電流を測定する必要があることは理解されるであろう。

湿度または温度の影響を補正するために、湿度および／または温度センサーを要すれば本発明の装置に組み合わせ得る。

本発明の範囲を外れることなく、他の変更を加え得る。本発明を特定の態様に關して説明したが、他の多くの形態で実施し得ることを当業者は理解するであろう。例えば、本発明の電気化学的電池を、ペンもしくは針状アナライザー、使い捨てストリップ、または外的もしくはインピボで使用する他のデバイス中に、センサーとして組み合わせることができる。

他の本発明の用途は、例えばエレクトロクロミックディスプレー用の垂直に並べて配置された薄い電極または電池を包含する。例えば、開発の遅い広面積ディスプレーに要素を適用するために、重ねた電極を使用し得る。広面積中でディスプレー要素を選択的に適用することは、電極が交差する点において多孔質電極および膜を通る集中域によって達成し得る。エレクトロクロミック材料は、電極表面上で色の変化をもたらすために使用し得る。異なるエレクトロクロミック材料を例えば各電極表面に固定して、カラーディスプレーを提供し得る。

【図1】

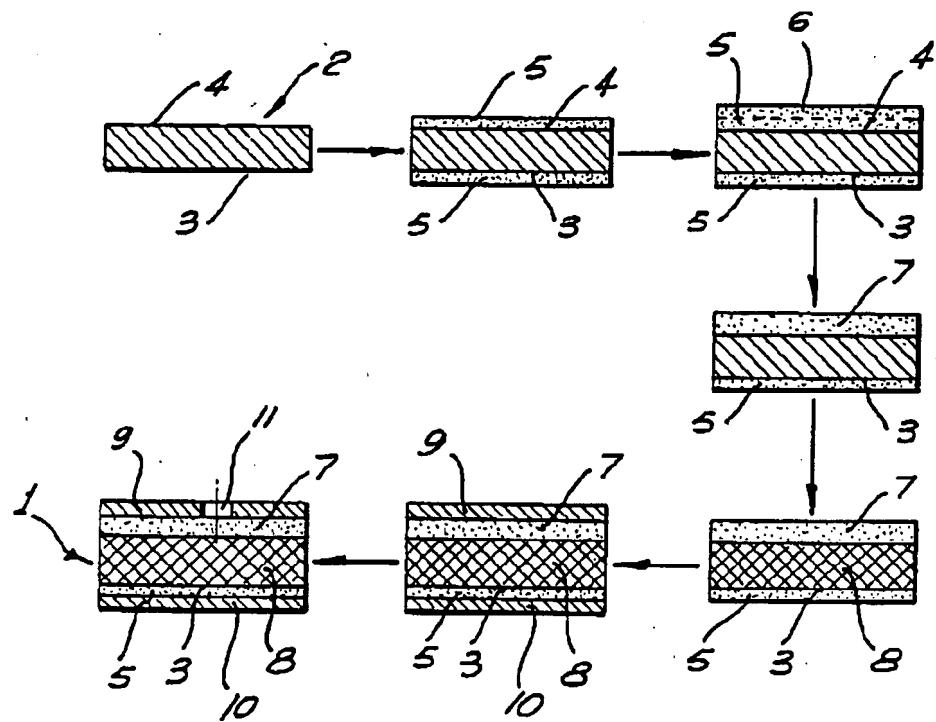


FIG. 1

【図2】

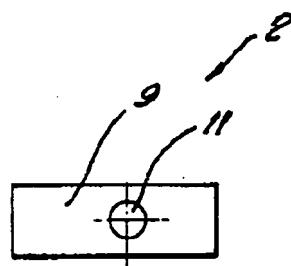


FIG. 2

【図3】

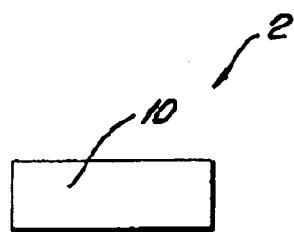


FIG.3

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/AU 95/00207

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER Int. Cl. ⁶ G01N 27/30, 27/31, 27/40		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC: G01N 27/30, 27/31, 27/40		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched AU: IPC as above		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base, and where practicable, search terms used)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to Claim No.
A	Derwent Abstract Accession No.92.119462/15, Class S03, JP,A, 04-62463 (TOKYO YOGYO K.K.) 27 February 1992 See abstract	1,12
A	Patent Abstracts of Japan, P-269, page 166, JP,A, 59-3345 (HITACHI SEISAKUSHO K.K.) 10 January 1994 See Abstract	1,3-5,12,13,19,20
A	US,A, 5151166 (HARRAL et al) 29 September 1992 See column 5, lines 18-43	1,12
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.		<input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention		
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone		
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art		
"&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 18 May 1995		Date of mailing of the international search report 21 JUNE 1995 (21.06.95)
Name and mailing address of the ISA/AU AUSTRALIAN INDUSTRIAL PROPERTY ORGANISATION PO BOX 200 WODEN ACT 2606 AUSTRALIA Facsimile No. 06 2853929		Authorized officer S.CLARK Telephone No. (06) 2832164

INTERNATIONAL SEARCH REPORTInternational application No.
PCT/AU 95/00207

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate of the relevant passages	Relevant to Claim No.
A	US,A, 4774039 (WRASIDLO) 27 September 1988 See Abstract & US,A,4629563 (WRASIDLO) 16 December 1986	2,15

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet)(July 1992) copifm

INTERNATIONAL SEARCH REPORTInternational application No.
PCT/AU 95/00207

This Annex lists the known "A" publication level patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report. The Australian Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information.

Patent Document Cited in Search Report				Patent Family Member			
US	5151166	EP	421672	GB	8922126	JP	3125958
US	4774039	US	4629563	US	4900443	BR	8101508
		CA	1202837	EP	36315	JP	56154051
END OF ANNEX							

(81)指定国 EP(AT, BE, CH, DE,
DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, M
C, NL, PT, SE), OA(BF, BJ, CF, CG
, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN,
TD, TG), AP(KE, MW, SD, SZ, UG),
AM, AT, AU, BB, BG, BR, BY, CA, C
H, CN, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB
, GE, HU, IS, JP, KE, KG, KP, KR,
KZ, LK, LR, LT, LU, LV, MD, MG, M
N, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU
, SD, SE, SG, SI, SK, TJ, TM, TT,
UA, UG, US, UZ, VN

(72)発明者 ベック, トマス・ウィリアム

オーストラリア2756ニュー・サウス・ウェ
ールズ、ワインザー、ドラモンド・ストリ
ート31番